

· 药品检验 ·

HPLC 法测定多维铁口服溶液中维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 的含量陈桂红<sup>1\*</sup>, 黄清松<sup>2</sup>(1. 深圳市宝安区西乡人民医院, 深圳市 518102; 2. 广东药学院, 广州市 510006)中图分类号 R927.2; R977.2<sup>2</sup> 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2008)10-0776-02

**摘要** 目的: 建立以高效液相色谱法测定多维铁口服溶液中维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 含量的方法。方法: 色谱柱为 C<sub>18</sub>, 流动相为离子对溶液(含 1.5 mmol · L<sup>-1</sup> 戊烷磺酸钠和 3.4 mmol · L<sup>-1</sup> 庚烷磺酸钠的 0.24% 三乙胺溶液, 用冰醋酸调节 pH 值至 3.0) - 甲醇(80 : 20), 检测波长为 254 nm, 流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 进样量为 10 μL。结果: 维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 检测浓度的线性范围分别为 4.81~24.6( $r=0.9991$ )、6.22~31.7 μg · mL<sup>-1</sup>( $r=0.9998$ ); 平均回收率分别为 103.3% (RSD = 0.5%), 99.5% (RSD = 0.7%)。结论: 本方法简便准确、灵敏度高、结果可靠, 可用于该制剂中维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 的含量测定。

**关键词** 高效液相色谱法; 维生素 B<sub>1</sub>; 维生素 B<sub>2</sub>; 含量测定

Determination of Vit B<sub>1</sub> and Vit B<sub>2</sub> in Duoweitie Oral Liquid by HPLC

CHEN Gui-hong (Shenzhen Bao'an District Xixiang People's Hospital, Shenzhen 518102, China)

HUANG Qing-song (Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine the contents of vitamin B<sub>1</sub> and vitamin B<sub>2</sub> in duoweitie oral liquid by HPLC. METHODS: Samples were separated on C<sub>18</sub>, the mobile phase consisted of ion pair solution(0.24% of triethylamine solution containing 1.5 mmol · L<sup>-1</sup> of sodium pentanesulfonate and 3.4 mmol · L<sup>-1</sup> of sodium heptanesulfonate with pH adjusted to 3.0 by glacial acetic acid) - methanol (80 : 20) at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 254 nm and the sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of vitamin B<sub>1</sub> and vitamin B<sub>2</sub> were 4.81~24.6( $r=0.9991$ ) and 6.22~31.7 μg · mL<sup>-1</sup>( $r=0.9998$ ), respectively, and the average recovery rates were 103.3% (RSD = 0.5%) and 99.5% (RSD = 0.7%), respectively. CONCLUSION: This method is simple, accurate, sensitive and reliable, and suitable for the determination of vitamin B<sub>1</sub> and vitamin B<sub>2</sub> in duoweitie oral liquid.

**KEY WORDS** HPLC; Vitamin B<sub>1</sub>; Vitamin B<sub>2</sub>; Content determination

## 4.3 留样观察

将 3 批样品各 20 g 装入塑料软膏盒中, 密闭, 室温(20 ± 5) °C 放置 6 个月。结果, 乳膏外观无变化, 未见分层现象, 符合药用乳膏的相关要求<sup>[3]</sup>。

## 5 动物刺激性实验

取日本大耳兔 6 只, 剪去背部兔毛, 面积约 3 × 3 cm<sup>2</sup>。24 h 后待由剪毛刺激引起的红肿消退, 在去毛部位涂复方赛庚啶霜, 每日 2 次, 每次 2 g, 共涂 7 d。7 d 后观察均未发现红肿, 表明该乳膏对皮肤无刺激性。

## 6 讨论

本品是根据《中国医院制剂规范》中盐酸达克罗宁软膏<sup>[2]</sup>化裁而研制的。赛庚啶为 20 世纪 80 年代初首个上市的羟色胺 (HT) 受体阻滞药, 其抗 H<sub>1</sub> 受体作用强于传统药物, 具有显著的止痒作用。盐酸达克罗宁外用起效快而安全, 对黏膜穿透力强, 作用迅速, 对皮肤有止痛、止痒及杀菌作用。醋酸地塞米松的抗炎作用及控制皮肤过敏比泼尼松更显著, 而对水钠潴留和排钾作用较轻微<sup>[4]</sup>。

本品组方合理, 兼具抗 5-羟色胺 (5-HT)、乙酰胆碱受体阻滞作用。

复方赛庚啶乳膏以盐酸达克罗宁、醋酸地塞米松、盐酸赛

庚啶为主药, 本研究采取测定含量较高的盐酸达克罗宁为质量控制重点, 在 279 nm 波长处有强吸收峰。因为醋酸地塞米松和盐酸赛庚啶在无水乙醇中溶解度较小, 且含量较低, 是盐酸达克罗宁的 1/10~1/20, 以不含盐酸达克罗宁的乳膏为空白样品, 在 279 nm 波长处 A 很小, 故含盐酸赛庚啶和醋酸地塞米松的乳膏几乎无干扰, 因而可采用紫外分光光度法测定盐酸达克罗宁的含量, 其余药品以定性鉴别为主, 其质量控制的最有效方法有待进一步完善。因该制剂获批准文号时采用的名称为复方赛庚啶乳膏, 故本文未以含量较高的盐酸达克罗宁命名。

该制剂水相由蒸馏水、丙二醇及十二烷基硫酸钠等组成, 其中丙二醇和十二烷基硫酸钠兼有促进药物经皮吸收作用, 与氮酮组成混合透皮促进系统, 有利于主药透皮释药, 发挥疗效。

## 参考文献

- [1] 李正华主编. 药物化学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 164, 367.
- [2] 潘学田主编. 中国医院制剂规范[S]. 第 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 1995: 144.
- [3] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 8.93, 178.
- [4] 陈新谦, 金有豫, 汤光主编. 新编药理学[M]. 第 15 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 297, 554, 570.

(收稿日期: 2008-01-27 修回日期: 2008-02-20)

\* 副主任药师。研究方向: 临床药理学、药理学。电话: 0755-27956255。E-mail: chghong@yeah.net

多维铁口服溶液为复方制剂,是由多种维生素、甘油磷酸铁、硫酸锌、L-盐酸赖氨酸等混合而成的红棕色黏稠液体,用于预防和治疗因缺乏维生素而引起的疾病。由于该制剂原有质量控制方法较复杂,为此,笔者建立了以高效液相色谱法同时检测多维铁口服溶液中的维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 的含量,结果表明,该方法简便准确、灵敏度高、结果可靠。

## 1 仪器与试剂

LC-10A 型高效液相色谱仪,包括 SPD-10A UV 检测器、LC-10A 色谱工作站(日本岛津公司);AT-240 分析天平(瑞士梅特勒公司)。

维生素 B<sub>1</sub> 对照品(批号:100390-200606)、维生素 B<sub>2</sub> 对照品(批号:100369-200606)均由中国药品生物制品检验所提供;多维铁口服溶液(湖南康寿制药有限公司生产,批号:20070123-1、20070123-2、20070123-3);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);检测波长: 254 nm;流动相: 离子对溶液(含 1.5 mmol·L<sup>-1</sup> 戊烷磺酸钠和 3.4 mmol·L<sup>-1</sup> 庚烷磺酸钠的 0.24% 三乙胺溶液,用冰醋酸调节 pH 值至 3.0)-甲醇(80:20);流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样量: 10 μL;柱温: 20 ℃。在上述色谱条件下,按维生素 B<sub>1</sub> 峰计算理论塔板数应不低于 1 000。色谱见图 1。

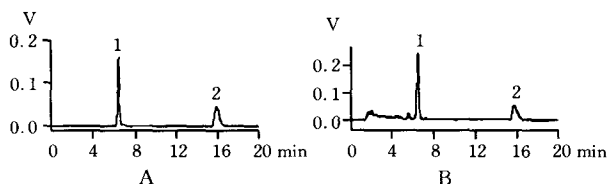


图 1 高效液相色谱

A. 对照品; B. 样品; 1. 维生素 B<sub>1</sub>; 2. 维生素 B<sub>2</sub>

### Fig 1 HPLC

A. reference substance; B. sample; 1. vitamin B<sub>1</sub>; 2. vitamin B<sub>2</sub>

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液: 分别精密称取经 105 ℃ 干燥至恒重的维生素 B<sub>1</sub> 对照品 12.1 mg、维生素 B<sub>2</sub> 对照品 15.7 mg, 分别置于 100 mL 棕色容量瓶中,加水超声助溶并稀释至刻度,摇匀。精密量取上述维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 溶液各 2 mL,置于 50 mL 容量瓶中,混匀后用水稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 样品溶液: 准确量取多维铁口服溶液 0.5 mL,置于 50 mL 棕色容量瓶中,加流动相适量,超声使其溶解,放冷,加水稀释至刻度,摇匀。

### 2.3 线性关系考察

精密量取维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 溶液各 4、6、8、10 mL,分别置于 50 mL 容量瓶中,混匀,用水稀释至刻度,摇匀,制成不同浓度的混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积(A)对其浓度(C)作线性回归,得回归方程分别为  $A_{B_1} = 1\ 986.5C_{B_1} + 125.7$  ( $r = 0.999\ 1$ )、 $A_{B_2} = 4\ 123.56C_{B_2} - 40.3$  ( $r = 0.999\ 8$ )。结果,维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 检测浓度的线性范围分别为 4.81~24.6、6.22~31.7 μg·mL<sup>-1</sup>。

### 2.4 精密度试验

取对照品溶液适量,重复进样 6 次,测得维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 的 RSD 分别为 0.30%、0.22%,表明本方法精密度较好。

### 2.5 稳定性试验

分别量取对照品溶液适量,保持色谱系统稳定,分别于 0、1、2、3、6、12、24 h 时进样,测定峰面积。结果,维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 的 RSD 均为 0.7%,表明对照品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.6 回收率试验

取已知含量的同一样品 5 份,分别精密加入对照品溶液 5 mL,按“2.2.2”项下方法制成样品溶液,照“2.1”项下色谱条件进行测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=3)

Tab 1 Results of recovery test(n=3)

组分	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	$\bar{x}$ /%	RSD/%
维生素 B <sub>1</sub>	0.412 1	0.426 9	103.6	103.3	0.5
	0.392 5	0.408 5	104.1		
	0.452 3	0.462 2	102.2		
维生素 B <sub>2</sub>	0.468 7	0.477 1	101.8	99.5	0.7
	0.412 3	0.407 8	98.9		
	0.493 2	0.482 3	97.8		

### 2.7 重现性试验

取同一批号样品 3 份,按“2.2.2”项下方法制成样品溶液,进样测定,计算维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 的 RSD 分别为 0.56%、0.71%,说明本方法的重现性较好。

### 2.8 样品含量测定

取 3 批样品,按“2.2.2”项下方法制成样品溶液,照“2.1”项下色谱条件进行测定,按外标法以峰面积计算含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Content determination results of samples(n=3)

批号	标示量/%	
	维生素 B <sub>1</sub>	维生素 B <sub>2</sub>
20070123-1	99.90	96.90
20070123-2	97.80	97.08
20070123-3	102.30	98.20

## 3 讨论

目前,测定复合维生素中各种维生素含量的方法主要有高效液相色谱法、紫外分光光度法<sup>[1]</sup>。如果采用紫外分光光度法则不能同时测定多维铁口服溶液中的维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub> 含量,操作复杂,而采用高效液相色谱法,则可根据不同的出峰时间,同时测定 2 种维生素的含量。

维生素 B<sub>2</sub> 的性质不稳定,故选择离子对溶液(含 1.5 mmol·L<sup>-1</sup> 戊烷磺酸钠和 3.4 mmol·L<sup>-1</sup> 庚烷磺酸钠的 0.24% 三乙胺溶液,用冰醋酸调节 pH 值至 3.0)-甲醇(80:20)作为其流动相,通过调整其溶剂与甲醇的比例,使样品峰保留时间合理<sup>[2]</sup>,其它组分不干扰。

### 参考文献

- [1] 赵吉平,刘爱萍,徐 锋.HPLC 法测定五维 B 颗粒中维生素 B<sub>1</sub> 的含量[J]. 中国药房,2007,18(28):2 211.
- [2] 冯改利,蒙跃龙,李小安,等.HPLC 法测定复方锌铁钙颗粒中维生素 B<sub>2</sub> 的含量[J]. 西北药学杂志,2006,21(5): 198.

(收稿日期:2008-01-30 修回日期:2008-02-21)